

TRANSICIONES DE FASE EN HIDROGELES NIPA/QUITOSANO: EFECTO DE LA POST-RETICULACIÓN CON GLUTARALDEHIDO

Carmen Alvarez-Lorenzo, Ruth Coronilla, Angel Concheiro

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 15782-Santiago de Compostela.

Introducción

Los hidrogeles capaces de experimentar modificaciones muy acusadas en su grado de hinchamiento cuando se producen pequeños cambios fisicoquímicos en su entorno resultan de gran utilidad en el desarrollo de formas de dosificación capaces de vectorizar fármacos hacia zonas concretas del organismo y de regular su cesión en función de necesidades específicas (1).

Los hidrogeles de poli-N-isopropilacrilamida (NIPA) presentan una temperatura de transición de fases ligeramente inferior a la temperatura corporal (33°C). Ello hace que presenten una elevada capacidad de carga a temperatura ambiente (estado hinchado) al tiempo que, una vez administrados, la difusión del fármaco se ve fuertemente dificultada por la reducción que experimenta el tamaño de malla del hidrogel (2). En la mayoría de las ocasiones resulta necesario, además, dotar al hidrogel de capacidad de respuesta frente a cambios de pH, para proteger al fármaco de la degradación en su paso por diversas zonas del organismo y conseguir una rápida cesión al alcanzar la zona donde se ha de absorber o ejercer su efecto terapéutico (1). Para ello se suele acudir a la copolimerización de NIPA con monómeros que cuentan en su estructura con grupos químicos ionizables. El principal inconveniente de este procedimiento es el considerable aumento que se produce en la temperatura de transición del hidrogel, llegando incluso a no manifestarse el proceso, a medida que aumenta la proporción de grupos ionizados, lo que limita la utilidad del

sistema (3). Una posible alternativa consiste en la preparación de hidrogeles de NIPA interpenetrados con un polímero hidrofílico ionizable, que los dote además de una mayor biocompatibilidad (4). De esta manera al no estar incorporados los grupos ionizables en el entramado tridimensional de NIPA, su sensibilidad a cambios de temperatura apenas se modifica. El polímero hidrofílico se mantiene retenido físicamente en el hidrogel a través de entrecruzamientos de sus cadenas con las del hidrogel de NIPA y, cuando se ioniza, obliga a éste a expandirse. Wang et al. (5) prepararon hidrogeles de quitosano reticulados con glutaraldehido en los que se encontraban libres las cadenas de NIPA. La principal limitación de este tipo de sistemas es la pérdida progresiva del polímero no reticulado durante los procesos de lavado y acondicionamiento del hidrogel una vez formado.

El objetivo de este trabajo es caracterizar las transiciones de fase en hidrogeles de NIPA químicamente reticulados e interpenetrados con quitosano y evaluar las posibles repercusiones que se derivan de una post-reticulación con glutaraldehido. Con ello se pretende aumentar la retención del quitosano en el sistema creando dos entramados interpenetrados e independientes.

Materiales y Métodos

Materiales. Se utilizaron dos lotes de quitosano: "A" adquirido a Marine Chemicals, India (lote MI/OA/270/FC/99/4294) y "B" de Georges S. Daras S.A., Francia (lote 222/991012). N-

isopropilacrilamida (NIPA) fue suministrada por Kohjin Co., Japón; N,N'-metilenobisacrilamida (BIS) por Sigma, España, y el glutaraldehído (25% en agua) por Merck, Alemania.

Determinación del peso molecular del quitosano. La viscosidad intrínseca de cada quitosano se estimó, a partir de medidas de viscosidad cinemática de series de dispersiones diluidas en medio ácido acético 0.5 M y cloruro sódico 0.25 M, aplicando la ecuación de Martín. El peso molecular se calculó por medio de la ecuación de Mark-Houwink: $[\eta] = KM^a$ asignando a K y a los valores $2.14 \cdot 10^{-3}$ y 0.657, respectivamente (6).

Síntesis de los hidrogeles. A 40 ml de dispersión de quitosano al 1.5% p/p en ácido acético 0.2 M, se añadió NIPA y BIS hasta alcanzar una concentración de 0.70 M y 0.02 M, respectivamente. Las dispersiones se mantuvieron en agitación durante 30 minutos y, a continuación, se almacenaron a 4°C durante 1 hora. A esta temperatura, se añadieron los agentes iniciadores de la polimerización, tetrametileno diamina (400 μ L) y persulfato amónico al 4% (400 μ L), y porciones de cada dispersión se inyectaron inmediatamente en moldes de 10cm x 10cm x 0.7mm. La polimerización se dejó transcurrir en reposo a temperatura ambiente durante 48 horas. La mitad de los hidrogeles preparados se sumergieron en agua destilada para la eliminación de las sustancias que no hubiesen reaccionado. La otra mitad se introdujo previamente en una disolución acuosa de glutaraldehído al 0.5% durante 1 hora y, a continuación, se lavaron con agua destilada durante 24 horas. Finalmente, todos hidrogeles se cortaron en forma de discos de 11 mm de diámetro y se conservaron en agua.

Caracterización de las transiciones de fases. Se estudió la evolución del diámetro de discos de cada hidrogel sumergidos en agua, sin ajustar el pH, y a pH 3 (HCl) y 8 (NaOH), frente al aumento de la temperatura utilizando un micrómetro digital. El grado de hinchamiento se calculó utilizando la expresión:

$$V/V_0 = (d/d_0)^3 \cdot 100$$

en la que d_0 y d representan el diámetro de los hidrogeles a 4°C y a la temperatura del ensayo, respectivamente.

La energía asociada a la transición y la temperatura a la que ocurre se determinaron por calorimetría diferencial de barrido (DSC Q-100, TA Instruments, UK). Para ello, muestras de discos procedentes de los medios indicados anteriormente (4-6 mg) y selladas en cápsulas de aluminio se enfriaron hasta -30°C a una velocidad de 5°C/min y, a continuación, la temperatura se elevó a la misma velocidad hasta 60°C.

Resultados y Discusión

El origen natural de los quitosanos (transformación química de la quitina presente en el esqueleto de crustáceos) y la escasez de especificaciones recogidas en las farmacopeas hacen que productos procedentes de suministradores diferentes puedan presentar notables divergencias en su comportamiento. Para dotar de cierta generalidad a este estudio, se seleccionaron dos lotes que, si bien presentan un grado de deacetilación similar (87%), difieren considerablemente en su aspecto y en la viscosidad que confieren a la dispersión en ácido acético. El quitosano B está constituido por partículas blancas, alargadas y de mayor tamaño (diámetro máximo en torno a 2 mm) que las del quitosano A (aprox. 0.3 mm), que presentan una coloración amarillenta. El peso molecular del quitosano B resultó ser sensiblemente mayor (359388 Da) que el del producto A (171751 Da). A pesar de las diferencias comentadas, en todos los casos los monómeros acrílicos se solubilizaron con facilidad y se obtuvieron hidrogeles de aspecto homogéneo. Los hidrogeles que se sumergieron en la disolución de glutaraldehído mostraron una mayor consistencia y menor fragilidad y el color amarillo característico del quitosano reticulado.

Todos los hidrogeles mostraron una transición de fases entre 32 y 36°C, si bien los hidrogeles post-reticulados con glutaraldehído presentaron, en todas las condiciones ensayadas, un grado de hinchamiento mayor que los hidrogeles en los

que el quitosano permanece libre (figura 1). Este hecho es especialmente notable a pH ácido.

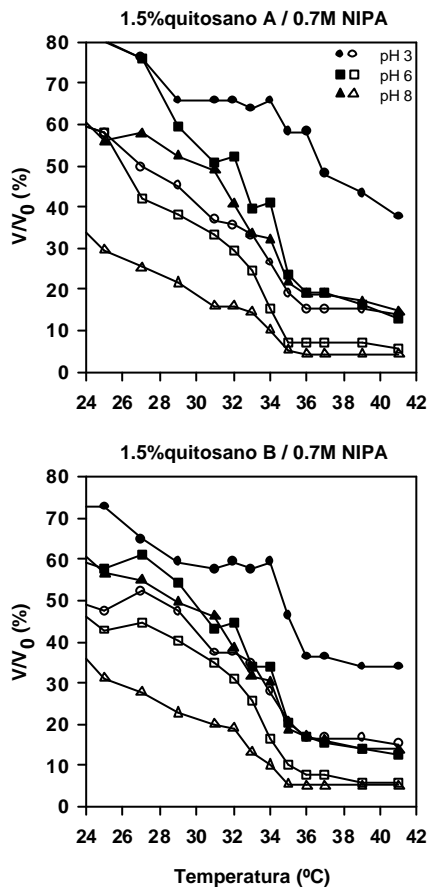


Figura 1. Dependencia del grado de hinchamiento de los hidrogeles NIPA/quitosano sin reticular con glutaraldehído (símbolos huecos) y post-reticulados (símbolos llenos) respecto de la temperatura y del pH del medio.

En los hidrogeles no reticulados con glutaraldehído se observa una menor dependencia del grado de hinchamiento respecto del pH que en los post-reticulados con glutaraldehído. Ello indica que, aunque en los dos casos la expansión de las cadenas de quitosano a pH ácido conlleva un hinchamiento del hidrogel, este efecto es mucho más eficaz cuando el quitosano se encuentra reticulado.

Las transiciones de fase suelen ir acompañadas de cambios energéticos de pequeña magnitud por lo que, en general, resulta difícil caracterizar

caloriméricamente el proceso(7). La posibilidad de disponer de equipos cada vez más sensibles permite analizar con más detalle la importancia de las variables que condicionan el proceso. En la figura 2 se muestran los termogramas correspondientes al intervalo de temperaturas en el que tiene lugar la contracción de los hidrogeles, que se manifiesta por la aparición de una endoterma.

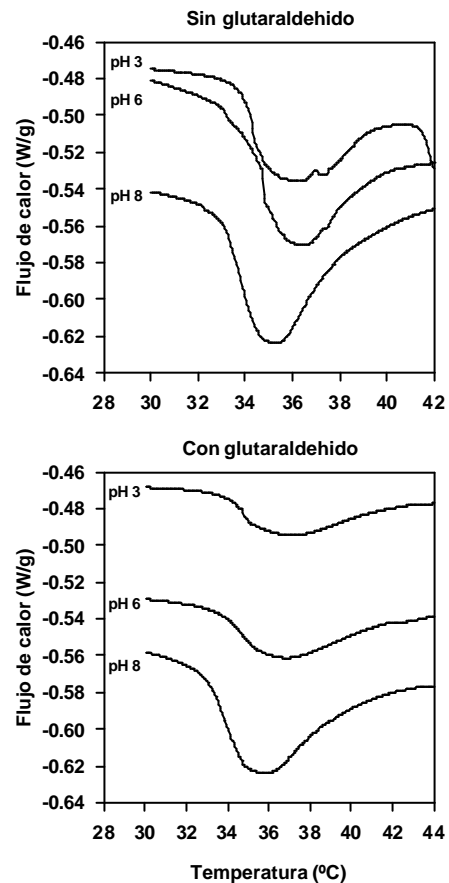


Figura 2. Termogramas de DSC de los hidrogeles NIPA/quitosano A, sin reticular y post-reticulados con glutaraldehído, obtenidos en distintas condiciones de pH.

En los hidrogeles post-reticulados con glutaraldehído, la transición de fases es menos endotérmica y tiene lugar a temperaturas más altas a pH ácido que a pH neutro o básico (Tabla 1). Estas diferencias se atenúan en el caso de

los hidrogeles no reticulados con glutaraldehído. El efecto fue similar para las dos variedades de quitosano.

Tabla 1. Resultados obtenidos en la caracterización termodinámica de las transiciones de fase de hidrogeles NIPA/quitosano. Valores medios (desviación estándar).

Quitosano	pH	DH (J/g)	Temp. (°C)
A sin reticular	3	2.42 (0.43)	35.7 (0.1)
	6	1.53 (0.20)	36.8 (0.5)
	8	3.00 (0.18)	35.2 (0.1)
A post-reticulado	3	0.90 (0.08)	36.7 (0.1)
	6	1.55 (0.25)	36.2 (0.3)
	8	2.62 (0.07)	35.6 (0.1)
B sin reticular	3	1.92 (0.18)	35.2 (0.1)
	6	2.35 (0.39)	36.7 (0.1)
	8	2.79 (0.04)	35.4 (0.1)
B post-reticulado	3	0.94 (0.15)	37.2 (0.8)
	6	1.54 (0.09)	36.9 (0.1)
	8	2.34 (0.15)	35.4 (0.1)

En resumen, los datos obtenidos indican que es posible obtener hidrogeles interpenetrados NIPA/quitosano sensibles a cambios de temperatura y de pH en el intervalo de valores fisiológicos. La sensibilidad al pH es mayor en los hidrogeles post-reticulados con glutaraldehído. En estos hidrogeles la transición de fases a pH ácido tiene lugar a una temperatura 1-2°C más alta y va acompañada de una menor reducción de volumen que a pH neutro o ligeramente básico. Además, los hidrogeles post-reticulados presentan una mayor resistencia mecánica. Todo ello indica la formación de un entramado tridimensional de quitosano en el seno del hidrogel de NIPA, que hace que los cambios de volumen inducidos por la ionización del quitosano se manifiesten con mayor intensidad. Estos hidrogeles abren nuevas perspectivas en la administración de fármacos por diversas vías.

Agradecimientos

Trabajo financiado por la Xunta de Galicia (PGIDT 00PX120303PR y 01PX1203014IF) y el Ministerio de Ciencia y Tecnología (RYC 2001/8).

Bibliografía

1. Yuk SH, Bae YH. Phase-transition polymers for drug delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 16, 385-423 (1999).
2. Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A. Reversible adsorption by a pH- and temperature-sensitive acrylic hidrogel. *J. Controlled Release* 80, 247-257 (2002).
3. Shibayama M, Tanaka T. Volume phase transition and related phenomena of polymer gels. *Adv. Polym. Sci.* 109, 1-62 (1993).
4. Yang J-F, Kwei TK. pH-sensitive hydrogels based on polyvinylpyrrolidone-polyacrylic acid (PVP-PAA) semi-interpenetrating networks (semi-IPN): swelling and controlled release. *J. Appl. Polym. Sci.* 69, 921-930 (1998).
5. Wang M, Qiang J, Fang Y, Hu D, Cui Y, Fu X. Preparation and properties of chitosan-poly(N-isopropylacrylamide) semi-IPN hydrogels. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 38, 474-481 (2000).
6. Sabnis S, Block LH. Chitosan as an enabling excipient for drug delivery systems. I. Molecular modifications. *Int. J. Biol. Macromol.* 27, 181-186 (2000).
7. Grinberg NV, Dubovik AS, Grinberg Vya, Kuznetsov DV, Makhaeva EE, Grosberg Ayu, Tanaka T. Studies of the thermal volume transition of poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels by high-sensitivity differential scanning microcalorimetry. 1. Dynamic effects. *Macromolecules* 32, 1471-1475 (1999).

Autor de contacto:

Carmen Alvarez Lorenzo
ffrusdog@usc.es

Universidad de Santiago de Compostela

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia.

15782- Santiago de Compostela

Tel.: 981563100 (ext. 14877)

Fax: 981547148